

8 Zusammenfassung und Ausblick

1. *p-tert*-Butylcalix[n]arene ($n = 4, 5, 6, 8$) konnten erfolgreich als chromatographische Selektoren an irreguläres Kieselgel mit einer Porenweite von 100 und 300 Å gebunden werden. Weiterhin wurde eine Monomer-Phase mit *p-tert*-Butylphenol an Kieselgel mit einer Porenweite von 100 Å gekoppelt. Die derivatisierten Kieselgele wurden als [n]Aren Si 100 (kurz [n]Aren) und [n]Aren Si 300 ($n = 1, 4, 5, 6, 8$) bezeichnet. Sie weisen Kohlenstoff-Gehalte von 9 bis 15 % auf. Für die [n]Aren Si 100 Kieselgele konnten Oberflächenkonzentrationen von 0,23 bis 0,39 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ und für die [n]Aren Si 300 Kieselgele von 0,39 bis 0,90 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ bestimmt werden. Im Vergleich dazu wurde für [1]Aren Si 100 eine bedeutend höhere Oberflächenkonzentration (1,3 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$) berechnet, was auf die planare Gestalt des *p-tert*-Butylphenols zurückzuführen ist, dessen Platzbedarf auf gleicher Fläche kleiner ist als der eines Calixarens.
2. Die strukturelle Analyse der derivatisierten Kieselgele mittels Adsorptionsmessungen und Festkörper-NMR-Spektroskopie bestätigt die Belegung mit Calixarenen. Die Adsorptionsmessungen zeigen, daß eine Verengung der Kieselgelporen erfolgte, die durch die Derivatisierung der Oberfläche verursacht wurde. Die Porengrößenverteilung kann für die Calixaren-Phasen (mit Ausnahme von [4]Aren Si 300) als annähernd gleich angesehen werden. Die Signale in den ^{13}C Festkörper-NMR-Spektren sind ausreichend aufgelöst, um die Kohlenstoffatome der Calixarene und der Silanspacer auf den Kieseloberflächen zu erkennen. ^{29}Si Festkörper-NMR-Messungen zeigen, daß noch freie Silanol-Gruppen vorhanden sind, die aufgrund der starken Vernetzung der Silanspacer abgeschirmt sein sollten.
3. Die neuartigen Calixaren-Phasen eignen sich als selektive Trennmedien in der HPLC. Sie zeichnen sich durch Langzeitstabilität aus, sind im üblichen pH-Bereich zwischen 2 und 7 einsetzbar und zeigen eine hohe Reproduzierbarkeit. Die Säulenmaterialien sind sowohl im RP-Modus als auch im Normal-Phasen-Modus anwendbar. Die Stationärphasen wurden erfolgreich zur HPLC von:
 - *cis/trans*-Isomeren prolinhaltiger Dipeptide (des Typs L-Xaa-L-Pro, Xaa = Ala, Ile und Phe),
 - Östradiol-Epimeren,
 - disubstituierten Aromaten (wie Nitroanilin und Hydroxybenzen),
 - methylierten Uracil-Derivaten,
 - Lipiden und

- Buckminsterfullerenen (C_{60}/C_{70})

eingesetzt. Aus dem Vergleich der Elutionsprofile und Retentionsfaktoren mit Cyclodextrin-, RP 18- und der neu entwickelten *p-tert*-Butylphenol-Phase als Referenzphasen lassen sich Rückschlüsse auf die Trennfunktionen der Calixaren-Stationärphasen ziehen. Im Vergleich zur HPLC an Cyclodextrin- und RP 18-Phasen wird deutlich, daß Trennfunktionen der Calixaren-Phasen auf solvophobe/ hydrophobe Effekte und Einschlußkomplexbildung zurückgeführt werden können, die durch „induced fit“, Charge-transfer, π - π - und elektrostatische Wechselwirkungen beeinflusst werden können. In Abhängigkeit von der Ringgröße der Calixarene ergeben sich Selektivitäten bezüglich der Größe und der Stereochemie der zu trennenden Moleküle. Die Calix[4]aren-Phase besitzt selektive Trenneigenschaften bei der HPLC der Nitroaniline. Die Calix[6]aren-Phase ist in der Lage, die Isomere des Dipeptides L-Ala-L-Pro, 17α - und 17β -Östradiol, die Positionsisomere des Dihydroxybenzens sowie unterschiedliche Ceramide und Cholesterol aufzulösen. Eine Übertragung der HPLC von Cholesterol und Ceramiden sollte im präparativen und semipräparativen Maßstab an einer Calix[6]aren-Phase möglich sein und zu einer Verbesserung der bisher verwendeten Methode führen. Die Calix[8]aren-Phase bietet sich für Trennungen der Isomere von L-Ile-L-Pro und L-Phe-L-Pro an. Zudem zeigt sie gegenüber den Isomeren des Dihydroxybenzens, 5-Methyl- und 6-Methyluracil sowie den Buckminsterfullerenen C_{60} und C_{70} eine hohe Trennleistung. Der Einsatz einer präparativen Calix[8]aren-Phase zur Reinigung von C_{60}/C_{70} kann empfohlen werden. Dagegen zeigt die Calix[5]aren-Phase keine besonderen chromatographischen Eigenschaften, was möglicherweise auf eine *cone-in*-Konformation des Pentamers vor allem in wäßrigen Lösungsmitteln zurückzuführen ist.

4. Zum Verständnis und zur Interpretation des Elutionsverhaltens der *cis/trans*-Konformere prolinhaltiger Dipeptide wurden Moleküldynamik-Simulationen mit Hilfe des Amber-Kraftfeldes durchgeführt. Das Komplexierungsverhalten der Calixaren-Stationärphasen wurde modellhaft anhand der Methoxycarbonylmethyl-Derivate der *p-tert*-Butylcalix[n]arene ($n = 4, 5, 6$) untersucht. Von besonderem Interesse sind die MD-Simulationen des cyclischen Hexamers. Es bildet auf der MD-Zeitskala mit allen getesteten Dipeptiden stabile Einschlußkomplexe, wodurch ein auf Einschlußkomplexbildung beruhender Retentionsmechanismus unterstützt wird. Dagegen waren alle Komplexe des Tetramers auf der MD-Zeitskala instabil, da der innere Hohlraum des Calix[4]arens für eine Einschlußkomplexbildung zu klein ist. Gleiches gilt auch für das Pentamer, wobei lediglich für das *trans*-Konformer von

Ala-Pro ein zeitlich stabiler Wirt-Gast-Komplex beobachtet werden konnte, der das Peaksplitting im Elutionsprofil der Calix[5]aren-Phase erklärt. MD-Simulationen für Calix[8]aren wurden nicht durchgeführt, da die Vielfalt der konformativen Anordnungen der Phenolbausteine des *p*-*tert*-Butylcalix[8]arens mit den derzeitigen Methoden des Molecular Modelling keine realistischen Simulationen erlaubt.

5. Die MD-Simulationen zeigen, daß durch die Komplexierung von geeigneten Kationen am unteren Rand eine Präorganisation der Calixarenrezeptoren möglich ist. HPLC-Untersuchungen mit verschiedenen kationenhaltigen mobilen Phasen bestätigen diese Ergebnisse. Daher ergeben sich für die HPLC an den Calixaren-Stationärphasen folgende Empfehlungen:
 - Na⁺-haltige Pufferlösungen für die HPLC an Calix[4]aren-Phasen,
 - K⁺-haltige Pufferlösungen für die HPLC an Calix[5]aren-Phasen und
 - NH₄⁺ oder Cs⁺-haltige Pufferlösungen für die HPLC an Calix[6]aren-Phasen.
6. Die Fraktionierung der *cis/trans*-Konformere des Dipeptids L-Phe-L-Pro an einer β -Cyclodextrin-Phase, nachfolgende ¹H-NMR-Spektroskopie sowie Re-Chromatographie an der Calix[8]aren-Phase bestätigen die Elutionsreihenfolge *trans* < *cis* an Cyclodextrin- und Calixaren-Phasen.
7. Die neuartigen Calixaren-Stationärphasen stellen selektive Trennmedien dar und können auch zur Lösung anderer, ähnlich gelagerter Aufgabenstellungen genutzt werden. Verbesserungen der Trenneigenschaften der Calixaren-Stationärphasen können durch Teilchenform und Teilchengröße des Kieselgels erreicht werden. Sphärische und kleinere Kieselgelpartikel führen zu dichteren Packungen der Säulenmaterialien und zu einer Erhöhung der Bodenzahlen, wodurch die Peakauflösung verbessert werden kann.
8. Aufgrund der Achiralität der Calixarene sind diese Stationärphasen nicht zur Trennung von Enantiomeren biologisch bzw. pharmazeutisch relevanter Verbindungen geeignet, die in der analytischen Chemie jedoch von wachsendem Interesse sind. Daraus ergibt sich für weiterführende Arbeiten die Entwicklung chiraler Calixaren-Phasen zur Trennung von Enantiomeren. Es eröffnet sich somit ein neues Feld für den analytischen Einsatz chiraler Calixarene sowohl in der Chromatographie als auch in der Kapillarelektrophorese.